

# フッ素-18標識フルオロフェニルアラニンのポジトロンエミッショントモグラフィーへの利用に関する基礎研究

著者	中道 博之
号	352
発行年	1994
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/15272">http://hdl.handle.net/10097/15272</a>

氏 名（本籍）                    なか 中                    みち 道                    ひろ 博                    ゆき 之

学 位 の 種 類                    博                    士                    （ 薬                    学 ）

学 位 記 番 号                    薬                    第                    3 5 2                    号

学位授与年月日                    平 成   6 年   11 月   16 日

学位授与の要件                    学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 題 目                    フッ素-18 標識フルオロフェニルアラニンのポジト  
ロンエミッショントモグラフィーへの利用に関する  
基礎研究

論文審査委員                    (主 査)  
教授 井 戸 達 雄                    教授 佐 藤                    進

教授 後 藤 順 一

## 論文内容要旨

ヒト脳の機能を非侵襲的に測定するには、陽電子断層法 (Positron Emission Tomography, PET), 単光子断層法 (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) あるいは磁気共鳴画像法 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) のような体外計測法が知られている。これらのうち、短半減期の陽電子放出核種を用いる PET は、使用現場に於ける、サイクロトロンによるアイソトープの産生とトレーサーの標識合成が必要であるという短所を有するが、定量性や解像力の点では優れている。

脳はアミノ酸を蛋白質や核酸合成の基質、神経伝達物質やその前駆体として、あるいはエネルギー代謝の中間体として利用している。したがって、脳内アミノ酸は脳機能を維持するために重要な役割を担っている。現在、PET によるヒトでのアミノ酸代謝の測定では、炭素-11 (物理半減期 20.4 分) で標識された  $^{11}\text{C}$ -ロイシン ( $\text{L}-[1-^{11}\text{C}]\text{leucine}$ ) や  $^{11}\text{C}$ -メチオニン ( $\text{L}-[^{11}\text{C}]\text{methionin}$ ,  $[^{11}\text{C}]\text{Met}$ ) が主に使用されている。しかしながら、霊長類の脳内蛋白質合成は齧歯類のそれに比べて長い時間を要し、ヒト脳の蛋白質画分に放射能が十分取り込まれるためには 60 分かそれ以上の時間を必要とする。その意味で炭素-11 の物理半減期 20.4 分は、正確な脳内動態を解析するには短いと言わざるを得ない。また、 $[^{11}\text{C}]\text{Met}$  を用いた方法 (Bustany et al., 1983) では、生体内でのメチル基転移反応により  $[^{11}\text{C}]$  原子は多くの分画にすばやく取り込まれるにもかかわらず、脳組織内のコンパートメントはメチオニンと蛋白質のふたつのみで、正確な  $[^{11}\text{C}]\text{Met}$  のコンパートメント解析を非常に困難なものにしている。

血液脳関門 (Blood-Brain-Barrier, BBB) には中性アミノ酸と塩基性アミノ酸を運搬する二つの大きな担体輸送システムが存在するが、中性アミノ酸であるロイシン、メチオニン、フェニルアラニン等は比較的容易に血液から脳組織に移行する。中性アミノ酸輸送は脳内アミノ酸の Feed-back 調節を受けるため蛋白質合成を含めたアミノ酸代謝と密接に関係しており、アミノ酸代謝を解析するためにもアミノ酸輸送の定量測定は極めて重要である。フッ素は炭素との結合が強く、水素との置換によっても構造全体に与える影響が小さい。また、フッ素-18 は炭素-11 に比べて長い物理半減期 (109.8 分) を有するため、PET でヒト脳内アミノ酸輸送や代謝を測定する場合、 $[^{18}\text{F}]$  標識アミノ酸は  $[^{11}\text{C}]$  標識アミノ酸の欠点を克服できるかもしれない。一方、フェニルアラニンは神経伝達物質、甲状腺ホルモン、またメラニンの前駆体であるため、その輸送や代謝は極めて重要である。フェニルアラニンの代謝異常によるフェニルケトン尿症はフェニルアラニンと競合する中性アミノ酸の脳内輸送の低下を招き重篤な障害を引き起こすことから、PET を用いた非侵襲的な脳内アミノ酸輸送の測定に対する要請は高まってきている。本研究はフェニルアラニンのフッ素-18 標識合成を試み、得られたフッ素-18 標識-2-フルオロフェニルアラニン ( $\text{L}-[2-^{18}\text{F}]\text{fluorophenylalanine}$ ,  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$ ) のアミノ酸輸送トレーサーとしての性質、有用性を明らかにすることを目的とした。

近年、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  とフッ素-18 標識-4-フルオロフェニルアラニン ( $\text{L}-[4-^{18}\text{F}]\text{fluorophenylalanine}$ ,  $4-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$ ) を  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  を用いて 100 分以内で合成できることが報告された。 $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  はフェニル基の求電子的フッ素化試薬として用いられている。しからば、フッ素-18-アセチルハイポフルオロライト

( $[^{18}\text{F}]$ acetyl hypofluorite,  $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$ ) もフッ素-18 標識フルオロフェニルアラニン ( $\text{L}-[^{18}\text{F}]\text{fluorophenylalanine}$ ,  $[^{18}\text{F}]\text{Phe}$ ) の合成に利用できると考えられた。最初に、筆者らは  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  と  $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  を用いて  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の合成法を比較検討した。 $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  を用いる標識方法の場合は、 $[^{18}\text{F}]$  標識反応混合物に対する  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$ , フッ素-18 標識-3-フルオロフェニルアラニン ( $\text{L}-[3-^{18}\text{F}]\text{fluorophenylalanine}$ ,  $3-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$ ) および  $4-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の合計の放射化学的収率が約 70% で、そのほとんどが  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  であった。一方、 $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  を用いた場合、 $[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の放射化学的収率は約 30~40% と、 $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  による方法に比べて低く副産物の生成する割合も著しく高かった。したがって、 $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  を用いる標識方法では、副産物の生成する割合が低く、良好な収率で  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  が得られるため、 $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  法が  $[^{18}\text{F}]\text{F}_2$  法に比べて優れていることが確認された。チロシンもフェニルアラニンと同様に脳内の蛋白質合成の基質で、神経伝達物質の前駆体として用いられる重要なアミノ酸である。 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  と同様に、 $[^{18}\text{F}]\text{AcOF}$  を用いてフッ素-18 標識-3-フルオロチロシン ( $\text{L}-[3-^{18}\text{F}]\text{fluorotyrosine}$ ,  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$ ) の合成も検討した。その結果、 $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  は 60 分以内に合成され、その放射化学的収率は約 30% であった。

得られた  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  と  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  の脳内動態についてラットを用い比較検討した。 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  と  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  投与 60 分後の酸不溶性画分と酸可溶性画分に取り込まれた放射能の割合を求めたが、両トレーサーとも酸不溶性画分に取り込まれた放射能の割合は約 30% にすぎず、酸可溶性画分の放射能の割合が大部分を占めた。酸不溶性画分の蛋白質と蛋白結合脂質に取り込まれた放射能の割合は、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  が  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  に比べ高い傾向を示した。一方、酸可溶性画分において、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の場合は大部分の放射能がアミノ酸画分に存在したが、 $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  の場合は 20% 以上の放射能が有機酸画分として存在していた。したがって、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  は  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  に比べて代謝分解を受けにくく、脳内に移行したその大部分がアミノ酸として存在することから、より単純な代謝経路であることが確認された。また、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  は  $3-[^{18}\text{F}]\text{Tyr}$  よりも毒性が低いことも報告されており、ヒトの BBB におけるアミノ酸輸送を PET を用いて定量するのに有用なトレーサーと考えられた。

脳内に移行した  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の約 60% がアミノ酸画分に存在することは確認されたが、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の化学形のままで存在するのか、あるいは別の  $[^{18}\text{F}]$  標識アミノ酸に変化したのかは不明である。そのため、アミノ酸画分での  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の安定性および代謝速度を  $\text{L}$ -フェニルアラニンと比較する意味で  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  とトリチウム標識-2,6-フェニルアラニン ( $\text{L}-[2,6-^3\text{H}]\text{Phenylalanine}$ ,  $[^3\text{H}]\text{Phe}$ ) の血中および脳内動態を比較検討した。 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  と  $[^3\text{H}]\text{Phe}$  を静脈内投与後、血漿の  $[^{18}\text{F}]$  と  $[^3\text{H}]$  放射能濃度は時間と共に減少し、トレーサー投与 20 分後に最低値に達したが、以後は時間経過と共に徐々に増加した。この  $[^3\text{H}]$  放射能濃度の増加する程度は  $[^{18}\text{F}]$  放射能のそれに比べて極めて大きかった。また、血漿の酸不溶性画分の  $[^{18}\text{F}]$  と  $[^3\text{H}]$  放射能濃度の割合は時間経過と共に増加したが、 $[^3\text{H}]$  放射能の増加程度が  $[^{18}\text{F}]$  放射能のそれに比べて大きかった。ゲル濾過クロマトグラフィーの結果、酸不溶性画分の放射能は血漿蛋白質と一致することが観察された。これらの事実は  $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の血漿蛋白質に取り込まれる速度は  $[^3\text{H}]\text{Phe}$  に比べて遅いことを示しており、 $2-[^{18}\text{F}]\text{Phe}$  の高分子化合物への同化代謝速

度は [ $^3\text{H}$ ]Phe に比べて遅いと考えられた。

トレーサー投与 60 分後の時点では、血漿と脳の 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe の酸可溶性画分に取り込まれた [ $^{18}\text{F}$ ] 放射能の 80%以上が 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe として残っていた。これに対して [ $^3\text{H}$ ]Phe の場合は、 $^{18}\text{F}$ ]Phe としての [ $^3\text{H}$ ] 放射能は 15%以下であった。これらの事実からも、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe は [ $^3\text{H}$ ]Phe に比べて血液と脳組織において安定で代謝を受けにくいことから、BBB でのアミノ酸輸送を定量するのに有用なトレーサーと考えられた。

2- $^{18}\text{F}$ ]Phe は [ $^3\text{H}$ ]Phe に比べて代謝を受けにくいことが見出された。しかし、アミノ酸代謝率がどの脳部位でも同じかどうかは不明である。アミノ酸から蛋白質あるいは脂質への同化の過程や速度を部位毎に比較する目的で、異なる絶食条件下で、大脳と小脳間の 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe および [ $^3\text{H}$ ]Phe 投与後の Differential Absorption Ratio (DAR), 酸可溶性, 酸不溶性, 蛋白質ならびに脂質画分に取り込まれた放射能の割合を比較検討した。24 時間絶食群では、DAR, 酸可溶性, 酸不溶性および蛋白画分の放射能の割合は 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe と [ $^3\text{H}$ ]Phe の間に差は認められなかった。各分画に取り込まれた [ $^{18}\text{F}$ ] と [ $^3\text{H}$ ] の放射能の割合は、どちらも大脳-小脳間で差が見られなかった。72 時間絶食群において、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe と [ $^3\text{H}$ ]Phe の DAR, 酸可溶性, 酸不溶性および蛋白画分の放射能の割合は、24 時間絶食群に比べて、大脳では増加したが、小脳においては変化が認められなかった。以上の結果から、大脳と小脳で 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe と [ $^3\text{H}$ ]Phe は同じ同化代謝パターンを示しており、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe はアミノ酸の PET トレーサーとして有用だと考えられた。

一方、24 時間と 72 時間絶食群において、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe および [ $^3\text{H}$ ]Phe 投与後、小脳の脂質画分に取り込まれた放射能の割合が大脳に比べて高かった。また、24 時間と 72 時間絶食群では、大脳と小脳間での脂質重量の差はわずかだったにもかかわらず、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe および [ $^3\text{H}$ ]Phe の放射能の割合を脂質重量の割合で除した値は大脳に比べて小脳では約 2 倍程高かった。この結果から、脂質画分に取り込まれた放射能の割合の大脳と小脳間での差は脳組織の脂質量の違いによるものではなく、アミノ酸から脂質への代謝速度が大脳と小脳で異なることも確認された。

L-フェニルアラニンは中性アミノ酸の担体を介して血液から脳に輸送される。しかし、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe の血液から脳への輸送担体と輸送率については不明であるため、生理食塩水、中性アミノ酸、塩基性アミノ酸を負荷したラットの大脳と小脳における 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe と炭素-14 標識フェニルアラニン (L-[U- $^{14}\text{C}$ ]phenylalanine, [ $^{14}\text{C}$ ]Phe) の輸送を比較検討した。血液-脳移行率 (Fraction of Transported Tracer, FTT) は血漿放射能積分値で脳組織放射能を除いた値で表した。コントロール群の大脳における 2- $^{18}\text{F}$ ]Phe と [ $^{14}\text{C}$ ]Phe の FTT は、それぞれ 0.042 と 0.045 で FTT 比は 0.92 であった。小脳におけるこれらの諸量はそれぞれ 0.043, 0.047, 0.91 であった。中性アミノ酸負荷群では、大脳と小脳における FTT は著明に低下した。塩基性アミノ酸負荷群では、コントロール群と比べて何等の差も認めなかった。いずれの群でも大脳と小脳間および各 FTT 比に差を認めなかった。以上の結果から、2- $^{18}\text{F}$ ]Phe は中性アミノ酸の担体を介して脳内に輸送され、 $^{14}\text{C}$ ]Phe に対する移行率は 0.9 と結論され、PET を用いて血中から脳へのアミノ酸輸送能を測定し得るトレーサーとしての有用性が更に保証された。

以上, 2-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe を合成し, 脳内アミノ酸輸送および代謝に関して他の近縁アミノ酸トレーサーと比較検討の結果, 2-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe は PET におけるアミノ酸輸送を評価するトレーサーとして有用であることが示された。

現在, 脳腫瘍におけるアミノ酸輸送の亢進が知られている。臨床 PET におけるアミノ酸輸送の定量解析は脳腫瘍を含む様々な脳疾患の生化学的病態解析に有用であると推定され, 正確なコンパートメント解析を可能にする 2-[ $^{18}\text{F}$ ]Phe は, 今後益々利用されると考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

人体内での薬物の動態を体外から計測し、かつ画像メディアを利用して臓器の機能診断や腫瘍の診断を行う診断技術としてポジトロントモグラフィーが近年開発され、核医学診断の最新画像診断法として発展しつつある。

これには診断目的に対応できる標識トレーサーの開発が不可欠であり、特に代謝の過程をモニターする場合には、薬物動態を単純化された数学モデルで解析して定量できるポジトロン標識トレーサーが必要である。

本研究は、ヒトの脳におけるアミノ酸動態のうちアミノ酸輸送系を定量的に測定するための放射性トレーサーを開発する目的で基礎的検討を進め、フッ素-18 標識 2-フルオロフェニルアラニンの実用的製造法・体内動態解析法を確立したものである。

すなわち、標識薬剤の合成についてはこれまで行われていた  $^{18}\text{F}\text{-F}_2$  による  $^{18}\text{F}$  標識化に代わってアセチルハイポフロライト ( $^{18}\text{F}\text{-CH}_3\text{COF}$ ) を経る合成法により、副生成物が少なく、高い標識合成率で 2-フルオロフェニルアラニンおよび 3-フルオロチロシンを合成できることを見出した。

これらの標識化合物についてラット脳内動態を精査、比較検討したところ  $^{18}\text{F}$  標識 2-フルオロフェニルアラニンは代謝が第一段階で遅く、一部最終的に  $^{18}\text{F}$ -脂肪酸まで代謝されてもフルオロ酢酸を生成しないこと、 $^3\text{H}$  標識フェニルアラニンとの比較実験から蛋白質分画への取り込みは少なく、チロシンへの代謝速度も遅く、大脳組織中のほとんどの放射能が、フルオロフェニルアラニンとしての化学形を保っていること、脳の部位による代謝率の変動がないことなどからアミノ酸輸送を選択的に描画できるトレーサーとして有効であり、動態解析についても単純化された 2-コンパートメントモデル解析で定量処理が行えることを示した。

さらに脳へのアミノ酸輸送の要である血液-脳関門においては、中性アミノ酸に対する担体輸送システムで本標識薬剤がフェニルアラニンと同じ挙動をとることを、 $^{14}\text{C}$ -フェニルアラニンと同時投与した動物についてのアミノ酸負荷試験で確認した。

以上、本研究によって  $^{18}\text{F}$ -2-フルオロフェニルアラニンが脳における中性アミノ酸のトランスポートを定量的に評価できるポジトロン放射薬剤であることが明らかにされた。

本研究の結果に基づいてすでに臨床応用が進められており、ヒト脳に於いてアミノ酸輸送を 2-コンパートメント解析で定量できることが確かめられている。またグリオーマに於けるアミノ酸集積がもっぱらアミノ酸輸送能増大に基づくもので、蛋白合成の増進ではないことが明らかにされている。このように本研究によって完成された中性アミノ酸輸送過程の定量解析法は、ポジトロンエミッショントモグラフィーの応用を拓げるものであり、高く評価できる。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として合格と認める。